

## **Avaluació del programa de cribratge d'aneuploïdies bioquímico-ecogràfic de l'any 2017 i plantejament de possibles accions de millora**

---

Estudiant: Marc Jiménez Castro  
Correu electrònic: marcjimenez12@gmail.com

Grau en Biologia

Tutor: Sandra Heras Mena  
Cotutor: Mercè Alsius Suñer  
Empresa / institució: Laboratori Clínic Territorial de Girona

Vistiplau tutor (i cotutor\*):

Tutor: Sandra Heras Mena

Cotutor: Mercè Alsius Suñer

Empresa / institució: Laboratori Clínic Territorial de Girona

Correu(s) electrònic(s): [malsius.girona.ics@gencat.cat](mailto:malsius.girona.ics@gencat.cat) ,  
[sandra.heras@udg.edu](mailto:sandra.heras@udg.edu)

## **AGRAIMENTS**

En primer lloc m'agradaria agrair al Laboratori Clínic Territorial de Girona per acollir-me, ensenyar-me i permetre'm aprendre durant la realització d'aquest treball. En concret, agrair a tots els treballadors de l'Àrea de Cribratge Prenatal i Autoimmunitat per la seva paciència i dedicació amb la meva persona.

Agrair per sobre de tot la meva co-tutora, a la Dra. Mercè Alsius Suñer, per haver-me permès desenvolupar aquest treball sota la seva direcció i experiència, per la confiança que va dipositar en mi des de el primer dia que li vaig demanar si volia dirigir-me el treball i per tots els seus consells.

A la meva tutora, Dra. Sandra Heras Mena per l'ajuda en el format i correcció d'aquest treball.

Per últim, però no menys important, agrair al pare, la mare, la parella, amics que es consideren família i totes aquelles persones properes a mi, les quals sense elles no hagués arribat fins aquí.

## RESUM

Els defectes congènits poden ser causats per anomalies cromosòmiques, que es classifiquen en anomalies numèriques o estructurals, segons si afecten al nombre de cromosomes o a l'estructura d'aquests. Per la detecció d'aquests defectes abans del naixement s'utilitza el diagnòstic prenatal, que permet detectar-los en el fetus.

El cribratge prenatal és un programa que permet posar de manifest les gestants que es troben en risc de patir una aneuploidia del total de gestants de la població. Posteriorment es podrà confirmar aquest risc per mitjà d'una prova diagnòstica en casos de risc augmentat.

L'objectiu principal d'aquest estudi és l'elaboració de l'informe d'avaluació del programa de cribratge de l'any 2017 al Laboratori Clínic Territorial de Girona a partir dels cribratges calculats i la seva procedència, del seguiment dels cribratges positius, els resultats dels cariotips patològics i una anàlisi dels indicadors de qualitat.

A més, també es fa una anàlisi dels motius dels cribratges no calculats per falta d'ecografia buscant-ne possibles accions de millora per mitjà de la redacció d'un informe als serveis d'Obstetrícia. I per últim també es fa una anàlisi de l'activitat que suposarà pel nostre laboratori la implementació del cribratge d'aneuploidies per DNA fetal en sang materna segons l'algoritme diagnòstic aprovat pel CatSalut al 2017, i s'informa al Cap de Servei del Laboratori Clínic Territorial de Girona.

A partir de l'anàlisi dels resultats, s'ha identificat les principals procedències i el nombre de cariotips anòmals que es van donar l'any 2017. També s'ha avaluat la sensibilitat i especificitat del programa de cribratge d'aneuploidies en aquest laboratori. A més s'ha pogut identificar els principals motius dels 265 cribratges no calculats per ecografia pendent i s'han estudiat possibles accions de millora envers els resultats obtinguts.

Per últim s'ha comprovat que la implementació del cribratge d'aneuploidies per DNA fetal en sang materna suposaria l'augment d'activitat i també la reducció del nombre de falsos negatius i per tant una major detecció de trisomies.

## RESUMEN

Los defectos congénitos pueden causarse por anomalías cromosómicas, que se clasifican en anomalías numéricas o estructurales, según si afectan al número de cromosomas o a la estructura de estos. Para la detección de estos defectos antes del nacimiento se utiliza el diagnóstico prenatal que permite detectarlos en el feto.

El cribado prenatal es un programa que permite poner de manifiesto las gestantes que se encuentran dentro del riesgo de sufrir una aneuploidía del total de gestantes de la población. Posteriormente se podrá confirmar el riesgo gracias a una prueba diagnóstica en los casos con riesgo aumentado.

El objetivo principal del estudio es la elaboración del informe de evaluación del programa de cribado del año 2017 en el “Laboratori Clínic Territorial de Girona” a partir de cribados no calculados i su procedencia, del seguimiento de los cribados positivos, los resultados de los cariotipos patológicos i un análisis de los indicadores de calidad.

A demás, también se lleva a cabo un análisis de los motivos de los cribados no calculados por falta de ecografía buscando posibles acciones de mejora por medio de la redacción de un informe a los servicios de Obstetricia. Y por último se hace una análisis de la actividad que supondrá a nuestro laboratorio la incorporación del cribado de aneuploidías por medio del DNA fetal en sangre materna según el algoritmo diagnóstico aprobado por el CatSalut en el 2017, y se informa al director del servicio del “Laboratori Clínic Territorial de Girona”.

A partir del análisis de los resultados, se han identificado las principales procedencias y el numero de cariotipos anómalos que se dieron en el año 2017. También se evaluó la sensibilidad i especificidad del programa de cribado de aneuploidía en este laboratorio. A demás, se han podido identificar las principales causas de los 265 cribados no calculados por ecografía pendiente y se han estudiado las posibles acciones de mejora en torno a los resultados obtenidos.

Finalmente se ha comprobado que la incorporación del cribado de aneuploidía por DNA fetal en sangre materna supondría el aumento de la actividad y también la reducción de falsos negativos, por lo tanto una mayor detección de las trisomías.

Per últim s’ha comprovat que la implementació del cribratge d’aneuploidies per DNA fetal en sang materna suposaria l’augment d’activitat i també la reducció del nombre de falsos negatius i per tant una major detecció de trisomies.

## **ABSTRACT**

Congenital defects can be caused by chromosomal anomalies, which are classified in numerical or structural abnormalities, depending on whether they affect, if may affect the number of chromosomes or their structure. For the correct detection of these defects before birth prenatal diagnosis is used, which allow detection in the fetus.

Prenatal screening is technique that shows the pregnant women if there is a risk of suffering an aneuploidy over the total number of pregnant women in the population. Subsequently, this risk can be confirmed by a diagnostic test in cases where the risk increases.

The main objective of this study is the preparation of the evaluation report of the screening program for the year 2017 at the “Laboratori Clínic Territorial de Girona” based on the calculated screening and their origin, the monitoring of positive screenings, the results of the pathological karyotypes and an analysis of the quality indicators.

In addition, an analysis of the reasons for the not calculated screening due to lack of the ecography searching for possible improvement actions through the writing of a report to Obstetrics services. And finally, an analysis of how can affect the activity the implementation of the aneuploidies prenatal screening by fetal DNA in maternal blood according to the diagnostic algorithm approved by CatSalut in 2017, and the Head of Service of the “Laboratori Clínic Territorial de Girona”.

More over with the analysis results, the main origins and the number of abnormal karyotypes that occurred in 2017 have been identified. The sensitivity and specificity of the aneuploidy screening program in this laboratory has also been evaluated. In addition, it was possible to identify the main reasons for the 265 screenings that were not calculated by pending ultrasound and we studied possible actions to improve the results obtained.

Finally, it has been verified that the implementation of the aneuploidies screening by fetal DNA in maternal blood would mean the increase in activity and also the reduction of the number of false negatives and therefore a greater detection of a trisomy.

# Índex

<b>1. Introducció .....</b>	<b>1</b>
1.1. Defectes congènits .....	1
1.2. Diagnòstic prenatal .....	1
1.2.1. Cribratge prenatal d'aneuploïdies .....	1
1.2.2. El diagnòstic citogenètic: el cariotip .....	4
1.2.3. Proves no invasives: DNA fetal en sang materna .....	6
<b>2. Objectives .....</b>	<b>6</b>
<b>3. Metodologia .....</b>	<b>7</b>
3.1. Tipus de mostra emprada i procedència .....	7
3.1.1. Criteris de sostenibilitat .....	7
3.2. Tractament ètic, legal, de gestió de la qualitat i d'anonimització de les dades ...	7
3.3. Metodologia analítica i de càlcul de risc de les aneuploïdies .....	8
3.4. Treball de camp i indicadors estadístics emprats .....	11
<b>4. Resultats i Discussió .....</b>	<b>12</b>
4.1. Avaluació del cribratge de primer trimestre de gestació .....	12
4.1.1. Cribratges fets i procedència .....	12
4.1.2. Cribratges positius i seguiment .....	13
4.1.3. Resultats dels cariotips patològics .....	13
4.1.4. Indicadors de qualitat.....	15
4.1.5. Mediana dels MoM dels marcadors bioquímics i ecogràfics .....	16
4.2. Avaluació del cribratge de segon trimestre de gestació .....	19
4.2.1. Cribratges fets i procedència .....	19
4.2.2. Cribratges positius i seguiment .....	20
4.2.3. Resultats dels cariotips patològics .....	20
4.2.4. Indicadors de qualitat.....	20
4.3. Cribratges no calculats per ecografies pendents .....	21
4.4. Càlcul aproximat de la previsió anual de determinacions de DNA fetal en sang materna peticionades pel nostre laboratori segons l'algoritme diagnòstic del CatSalut del 2017.....	26
<b>5. Conclusions.....</b>	<b>28</b>
<b>6. Bibliografia .....</b>	<b>29</b>

## **1. Introducció**

### **1.1. Defectes congènits**

Les malalties amb component genètic suposen actualment una quarta part de les morts perinatals i moltes d'elles van associades a un retard mental i/o físic. Així, l'estudi dels defectes congènits ha esdevingut una part important de la salut pública.

L'organització Mundial de la Salut (OMS) va definir el defecte congènit l'any 1982 com a "tota anomalia del desenvolupament morfològic, estructural, funcional o molecular, present en el moment de néixer (malgrat que pugui manifestar-se més endavant), externa o interna, familiar o esporàdica, hereditària o no, única o múltiple" (Organización Mundial de la Salud, 2010)

Per una banda trobem defectes que poden ser causats per anomalies monogèniques com els errors congènits del metabolisme i també trobem un grup reduït de defectes congènits causats per causes ambientals, és a dir, no genètiques, com les infeccions fetals. En general, la majoria de malformacions físiques són d'origen multifactorial, és a dir, intervenen factors tant genètics com ambientals (Servei Català de la Salut, 2008).

Els defectes congènits també poden ser causats per anomalies cromosòmiques, que es divideixen bàsicament en dos grups, les numèriques i estructurals, segons si afecten al nombre o a l'estructura dels cromosomes.

Les trisomies són anomalies cromosòmiques numèriques on hi ha un excés d'1 cromosoma en la dotació típicament diploide per herència d'un cromosoma d'origen matern i d'un altre d'origen patern. Les trisomies dels cromosomes 21, 18 i 13 són les que es detecten més freqüentment en el període gestacional.

Estudis demostren que a Europa en els últims anys (1990-2009) el total de fetus afectats amb trisomia 21 va ser de 22 per cada 10.000 naixements, de trisomia 18 va ser de 5 per cada 10.000 i de trisomia 13 va ser de 2 per cada 10.000 (Loane et al., 2013)

### **1.2. Diagnòstic prenatal**

El diagnòstic prenatal engloba totes les accions de diagnosi que tenen per objectiu la detecció, durant l'embaràs, d'un defecte congènit en el fetus (Bailón, 2004). El diagnòstic prenatal d'aneuploidies, actualment inclou el cribratge prenatal d'aneuploidies, el diagnòstic citogenètic, l'ecogràfic, el bioquímic i el molecular.

#### **1.2.1. Cribratge prenatal d'aneuploidies**

Les proves de cribratge poblacional permeten posar de manifest aquells individus que presenten una major probabilitat de ser portadors d'una patologia entre tots els

individus susceptibles de patir-la, en base al coneixement previ d'absència o presència d'uns marcadors (Sabrià et al., 2004). Solen ser proves amb alta sensibilitat per tal de no perdre cap cas positiu, i que es confirmaran només uns quants per una prova diagnòstica posterior.

El motiu de les proves de cribratge moltes vegades sol ser econòmic, donat que les proves diagnòstiques tenen un elevat cost; i a més en l'àrea de diagnòstic prenatal s'hi afegeix un motiu de risc invasiu fetal en la prova diagnòstica que pot derivar en un avortament, tot i que la probabilitat es baixa tant en biòpsia corial com en l'amniocentesi, al voltant d'1%.

El cribratge prenatal d'aneuploidies constitueix, en l'actualitat i en la majoria de consultes obstètriques, un dels procediments habituals del control de les trisomies fetals en la gestació. Aquestes proves de cribratge quantifiquen el risc de patir trisomies fetals dels cromosomes 21, 18 i 13 (Síndrome de Down, d'Edwards i de Patau, respectivament), perquè aquestes trisomies són pràcticament les úniques que donen certa viabilitat fetal durant l'embaràs i algunes vegades al nadó, sobretot en el cas de la trisomia 21.

Els marcadors utilitzats en el cribratge prenatal són de tipus bioquímic, ecogràfic, demogràfic i d'hàbits. Aquests marcadors són característiques biològiques, com l'edat materna o valors bioquímics, característiques funcionals i morfològiques, les quals es determinen per mitjà d'una ecografia (p. ex. translucidesa nugal) (Sabrià et al., 2004).

A priori existeix un risc inicial on totes les embarassades tenen risc de tenir un fetus amb defectes cromosòmics, i això depèn d'uns valors basats en l'edat materna i l'edat gestacional. A mesura que augmenta l'edat materna augmenta la possibilitat de què el fetus contingui un defecte cromosòmic, i això és degut a què els oòcits conforme avança l'edat es van degenerant i quan es produeix la meiosi, en el moment de la divisió de la cèl·lula diploide ( $2n$ ) en cèl·lules haploides ( $n$ ), es produeix la no disjunció meiòtica i és més probable trobar-nos amb gàmetes diploides en comptes d'haploides. En el moment d'unir-se un oòcit diploide amb l'espermatozou haploide es forma la trisomia (Gardner i Sutherland, 2004).

#### Cribratge del primer trimestre d'embaràs

Actualment a Catalunya el cribratge d'aneuploidies segueix la Instrucció del CatSalut 07/2008 que determina oferir a la gestant un cribratge combinat bioquímic-ecogràfic en sang en el primer trimestre de la gestació. El cribratge comprèn:

- 1) L'extracció de sang materna per a la determinació de la fracció  $\beta$  lliure de la gonadotropina coriònica ( $f\beta$ -hCG) i la proteïna A plasmàtica associada a



l'embaràs (PAPP-A). S'ha de realitzar en el període gestacional de les setmanes 8 a 13+6.

- 2) La mesura de la translucidesa nual (TN) ecogràfica. S'ha de realitzar en el període gestacional de les setmanes 11+2 a 14+0. La mesura de la TN es basa en la longitud de l'edema a la part posterior del coll fetal, el qual és un fenomen transitori observat entre les setmanes 11+2 a 13+6 de gestació i que està present en gestacions normals, però en gestacions de fetus amb trisomia 21 i d'altres anomalies cromosòmiques està significativament augmentat per acumulació de líquids en aquesta zona (Martin i Lopez, 2007).

Adicionalment, en l'ecografia de primer trimestre d'embaràs també cal fer la mesura de la longitud cèfalo-caudal (LCC), necessària per datar l'edat gestacional.

Amb combinació d'aquests marcadors bioquímics, ecogràfics, demogràfics i d'hàbits (tabac, diabetis i pes) els programaris de càlcul de risc n'extreuen un determinat risc.

El cribratge combinat es pot realitzar en un sol pas, fent simultàniament ecografia i determinacions bioquímiques entre les 11 i 13+6 setmanes de gestació, o en dos passos, amb les determinacions bioquímiques en les setmanes 8-9 i l'ecografia en les setmanes 12-13+6 (Alcaine et al., 2015). Tot i que logísticament el cribratge en un pas és més pràctic, la bibliografia descriu un major rendiment del cribratge en dos passos.

#### Cribratge del segon trimestre d'embaràs

El cribratge de 2n trimestre s'utilitza com a cribratge residual i és només bioquímic a partir dels marcadors següents: l'estriol lliure, la f- $\beta$ hCG, l'alfafetoproteïna i l'inhibina A.

#### Informe de resultats

Els valors absoluts dels marcadors bioquímics (f $\beta$ -hCG i PAPP-A) i ecogràfics (TN) es relacionen amb la mediana de la setmana gestacional de la gestant i d'aquest quocient s'obté el múltiple de la mediana (MoM) per cada un d'aquests marcadors, i això ens permet saber respecte de la població normal si un marcador està augmentat, disminuït o dins dels valors de referència. El motiu de la conversió d'aquests resultats absoluts en relatius (MoM) és que els valors varien durant l'embaràs, els de la PAPP-A i la TN augmenten i els de la f $\beta$ -hCG disminueixen amb el pas de les setmanes (Figura 1).

## Múltiples de la mediana poblacional (MoM)

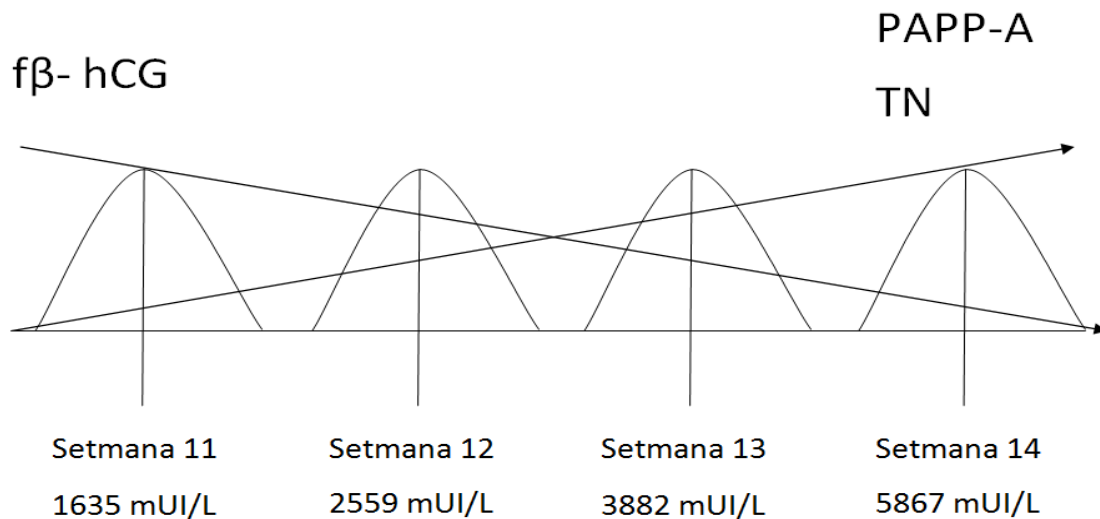


Figura 1. Variació dels valors dels marcadors bioquímics i ecogràfics amb el pas de les setmanes.

El risc s'informa segons la instrucció 07/2008 del CatSalut, en base a un punt de tall d' 1/250 que és el que està considerat que té major benefici/risc. És a dir, un risc d' 1/40 serà considerat un risc alt, entès com que la gestant té 1 probabilitat entre 40 gestants de portar un fetus afectat de trisomia; en canvi un risc de 1/10.000 serà considerat un risc baix. A aquelles persones que siguin considerades amb un alt risc se'ls ofereix la possibilitat de fer-se una prova invasiva diagnòstica (cariotip fetal) o actualment ja també no invasiva (DNA fetal en sang materna). El cariotip fetal es pot fer en líquid amniòtic o en vellositat corial, ambdues mostres obtingudes per procediments invasius.

### Especificacions del programa

Segons la instrucció 07/2008 del CatSalut, el programa ha d'assegurar una taxa de detecció mínima del 75% dels casos, amb un màxim de casos positius del 5%, i que minimitzi els efectes adversos de les tècniques utilitzades.

#### 1.2.2. El diagnòstic citogenètic: el cariotip

Es tracta de la representació gràfica de la dotació cromosòmica cel·lular. El cariotip humà s'escriu segons la normativa ISCN (International Standard Cytogenetic Nomenclature) que es publica periòdicament des de 1977 (Gardner et al., 2004).

Pel normal desenvolupament d'un individu que prové de l'herència d'una dotació cromosòmica materna i una altra de paterna, en humans és necessària la presència de dues còpies de cada un dels 22 autosomes i dels dos cromosomes sexuals. El que pot produir canvis permanents en nombre i estructura dels cromosomes són errors que es produeixen a nivell meiótic i mitòtic. Normalment però, és més freqüent que els errors es produeixin a nivell de les dues divisions meiótiques dels gametòcits primaris que donen lloc a cèl·lules haploides (Gardner et al. 2004).

L'estudi del cariotip només es fa, com s'ha esmentat anteriorment, quan hi ha sospita prenatal o post natal que l'individu pugui patir una anomalia cromosòmica. Les anomalies cromosòmiques es divideixen en:

- Anomalies numèriques: inclouen les aneuploïdies, que són una causa important de mort perinatal i discapacitat en la infància, en les quals el nombre de cromosomes d'un individu no és múltiple del nombre bàsic del mateix grup d'individus. Aquest tipus de defecte congènit es considera quan tot o part d'un o més cromosomes s'han addicionat o perdut. En les trisomies, s'ha afegit un cromosoma a la parella de cromosomes homòlegs (Moreno et al., 2004). Entre les trisomies, la que de forma més comuna és causant de discapacitat és la síndrome de Down (o trisomia 21), però hi ha d'altres trisomies com la síndrome d'Edwards (trisomia cromosoma 18) o la síndrome de Patau (trisomia cromosoma 13) (Molina, 2011).
- Anomalies estructurals: en aquest tipus d'anomalies l'estructura d'un cromosoma pot variar de diferents maneres.
  - Duplicacions: una part del cromosoma és duplicat, i això produeix material genètic de més.
  - Translocacions: es transfereix una part d'un cromosoma a un altre cromosoma no homòleg. Hi ha dos tipus principals de translocacions, les recíproques, en les que es produeix intercanvi de segments de dos cromosomes diferents i les robertsonianes on un cromosoma sencer s'uneix al centròmer de l'altre.
  - Inversions: una part del cromosoma es desprèn i és reinserit en el cromosoma però en posició inversa (gir de 180°)
  - Delecions: es perd o s'elimina una part del cromosoma
  - Anells: una part del cromosoma es trenca i forma un cercle o anell. Això pot produir pèrdua de material genètic o no (Green, 2018).

### 1.2.3. Proves no invasives: DNA fetal en sang materna

La detecció de DNA fetal en sang materna ha estat un dels descobriments actuals més prometedors en el camp del diagnòstic prenatal. S'ha descrit la presència de DNA fetal en plasma matern a partir de la cinquena setmana de gestació, i aquest DNA només correspon a entre un 5 i 7% del DNA total en sang materna, però es coneix que augmenta un 30% cada setmana de gestació.

Actualment se sap que el DNA fetal és més petit que el matern de manera que això ajudaria com a possible mètode per a la quantificació (Prieto i Fernández, 2010).

Aquest test de cribratge prenatal no invasiu, vol detectar i posteriorment seqüenciar de manera massiva el DNA fetal que circula en sang materna. Per la seva realització és necessari l'ús d'eines informàtiques per la generació, processament i anàlisi de dades que provenen de la seqüenciació del DNA, i permet obtenir informació funcional del material genòmic del fetus (Centre Anàlisis Biològiques, 2018)

En l'àmbit del cribratge prenatal, aquest test pot esdevenir una alternativa realista al diagnòstic invasiu per tal de quantificar el nombre de còpies dels cromosomes 21, 18, 13, X i Y, la principal limitació és que actualment només és possible detectar seqüències que difereixin del DNA genòmic matern. Serà necessari la utilització de marcadors epigenètics, la detecció de seqüències específiques fetals o ràtios al·lèliques (Prieto, 2010)

En la inclusió del DNA fetal dins del diagnòstic prenatal s'oferirà la prova en casos on hi hagi un risc intermedi (entre 1:251 i 1:1100) i en casos amb risc alt (entre 1:10 i 1:250). En les dues situacions i en cas de risc augmentat per cribratge de DNA fetal es podrà optar a una confirmació posterior en casos amb risc augmentat amb el cariotip (Departament de Salut, 2017).

El DNA fetal en sang materna té una sensibilitat propera però no encara del 100%, és per això que actualment és encara considerada una prova de cribratge i no pas de diagnòstic.

## **2. OBJECTIVES**

- Perform the retrospective evaluation of the aneuploidy prenatal screening program performance for 2017 which is presented annually at the Clinical Laboratory and to the Obstetrics Department.
- Analyse the reasons of not calculated screenings due to lack of ultrasound and look for possible improvement actions that can be derived.
- Measure the activity that would suppose the incorporation of aneuploidies by prenatal screening based in fetal DNA on maternal blood on our lab according to the diagnosis algorithm of CatSalut in 2017.

### **3. METODOLOGIA**

La metodologia en aquest treball descriu el tipus de mostra emprada i la seva procedència, el tractament ètic, legal, de gestió de qualitat i d'anonimització de les dades, les metodologies analítiques i de càlcul de risc i la descripció del treball de camp fet i dels indicadors estadístics emprats.

#### **3.1. Tipus de mostra emprada i procedència**

En cribratge prenatal es treballa amb mostres de sèrum extretes de pacients per part dels diferents centres als quals el Laboratori Clínic Territorial de Girona els fa els càlculs de risc: Hospital Dr. Josep Trueta, Hospital Santa Caterina, Hospital de Figueres, Hospital d'Olot i Hospital de Campdevànol.

Les mostres de sang arriben refrigerades, es centrifuguen 10 minuts a 3.500rpm a 19°C i es separa el sobrenedant si no es processen al dia. Les mostres es conserven 2 dies refrigerades a 2-8°C i 3 mesos a -20°C.

##### **3.1.1. Criteris de sostenibilitat**

En relació als criteris de sostenibilitat del laboratori es compleix amb el Decret 27/1999, del 9 de febrer, de la gestió dels residus sanitaris, el Decret 300/1992, del 24 de novembre, d'ordenació de la gestió dels residus sanitaris (DOGC núm. 1688, de 30.12.1992) i el Decret 71/1994, de 22 de febrer, sobre els procediments de gestió dels residus sanitaris (DOGC núm. 1883, de 13.4.1994), que van fixar els criteris a seguir en els processos de manipulació, classificació, transport, tractament i disposició del rebuig dels residus sanitaris (OMEGA, 2007).

#### **3.2. Tractament ètic, legal de gestió de la qualitat i d'anonimització de les dades**

Vaig dur a terme l'estudi complint amb els principis ètics d'investigació clínica establerts en la Declaració de Hèlsinki (Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial, 2008) i amb les normes de Bones Pràctiques Clíniques (ICH).

En el Laboratori Clínic Territorial de Girona es treballa seguint la confidencialitat respecte de la llei 15/1999 de Protecció de Dades de Caràcter Personal on s'exposa que: "Totes les dades personals seguiran un tractament de confidencialitat estricte, és a dir, que en tot moment es mantindrà la confidencialitat de la identitat del pacient i només es revelarà per requeriment legal" (OMEGA, 2007).

Tanmateix, el laboratori treballa segons la norma espanyola UNE-EN ISO 9001, concretament en la ISO 9001:2015 que estableix els requisits que ha de complir un sistema de gestió de la qualitat per empreses de servei (International Standard Organization, 2015).

L'anonimització de dades es va fer treballant amb una doble base de dades:

- Base de dades 1 que contenia un número correlatiu associat a un número de petició d'història clínica.
- Base de dades 2 que contenia un número correlatiu associat als resultats de risc de cribratge i al cariotip. No hi consta cap dada d'identificació personal de la gestant.

### 3.3. Metodologia analítica i de càlcul del risc d'aneuploïdia

En el nostre laboratori fem la determinació del cribratge bioquímic-ecogràfic del primer trimestre gestacional amb l'analitzador **Cobas e-411** (Roche Diagnostics), que és l'aparell que s'utilitza per les quantificacions bioquímiques de la PAPP-A i la f-βhCG en sèrum matern per metodologies d'immunoassaig d'electroquimioluminiscència (ECLIA) (Figura 1 i 2). L'extracció de sang es fa entre les 8 i 13+6 setmanes gestacionals i l'ecografia entre les 11+2 i les 14+1 setmanes.

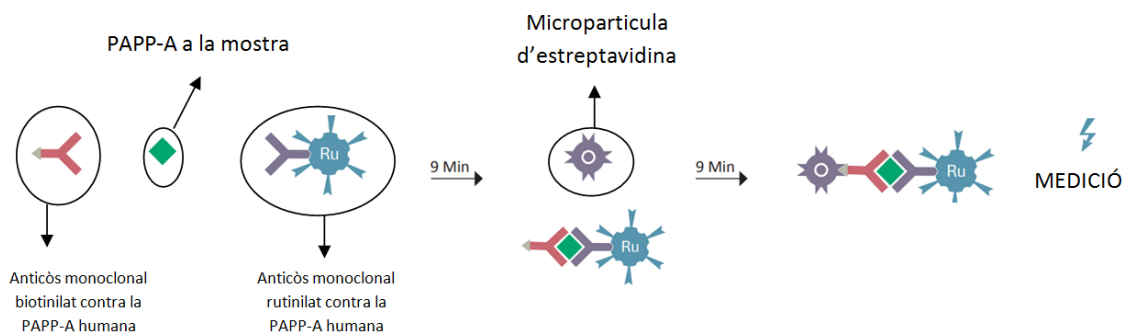


Figura 2. Principi del test: assaig sandvitx d'un sol pas. Immunoassaig d'electroquimioluminiscència (ECLIA) per quantificació PAPP-A (Analizadores Elecsys y cobas e, 2011).

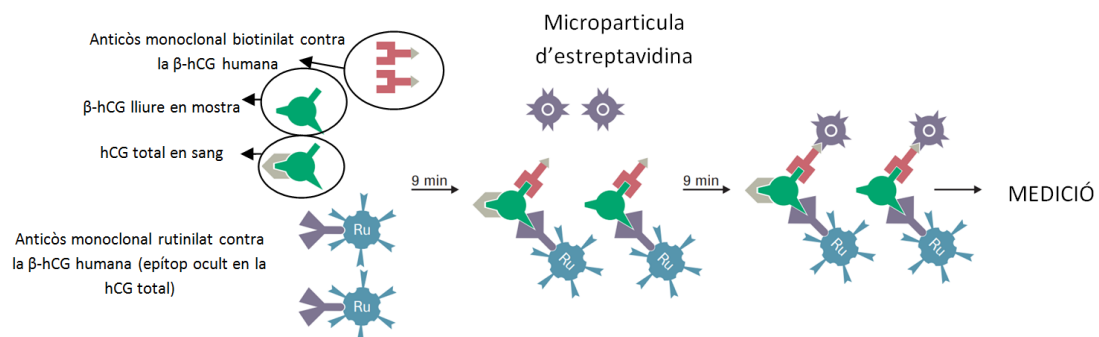


Figura 3. Principi del test: assaig sandvitx d'un sol pas. Immunoassaig d'electroquimioluminiscència (ECLIA) per quantificació "free" β-hCG (Analizadores Elecsys y cobas e, 2012).

En el cribratge de 2n trimestre es determinen els valors de l'estriol lliure, la f-βhCG, l'alfafetoproteïna i l'inhibina A a l'Hospital Clínic de Barcelona, per decisió corporativa del CatSalut. Aquest cribratge es fa entre les 14 i 19+6 setmanes, i en la pràctica clínica ha quedat com un cribratge residual en gestants que per diferents motius no se'ls hi ha fet un cribratge de primer trimestre.

Per altra banda s'utilitzen **ecògrafs** per a les determinacions de la longitud cèfalo-caudal (LCC o CRL) i translucidesa nual (TN) per part del servei d'Obstetrícia dels diferents centres.

També són importants en el càlcul de risc dades demogràfiques i d'hàbits com, l'edat materna, la raça, els antecedents de trisomies, l'existència de diabetis gestacional, l'hàbit tabàquic i el pes.

A partir de les mesures bioquímiques, ecogràfiques i dades demogràfiques i d'hàbits es fa el càlcul de risc en el programari **SSdwLab 6.0** de l'empresa SBP Software. Aquest càlcul es basa en el mètode descrit per Palomaki i Haddow (Palomaki i Haddow, 1987).

Per poder valorar els marcadors bioquímics i de la TN s'utilitzen els MoM que s'extreuen, tal i com s'ha esmentat anteriorment en l'apartat d'introducció, a partir de la relació dels valors absoluts dels marcadors amb els valors de la mediana de la setmana gestacional de la gestant per a cada marcador. Les medianes poblacionals utilitzades al nostre laboratori per calcular aquests MoM són els que es mostren a continuació i que consten al programari de càlcul SsdwLab. Tots els 7 laboratoris de l'Institut Català de la Salut treballem amb les mateixes medianes calculades a partir de la base de dades comuna de gestants (Taula 1 i 2).

Taula 1. Valors mediana dels marcadors bioquímics de la setmana gestacional de la gestant utilitzats pel càlcul dels MoM.

Número de Setmana	fβ-hCG (mUI/L)	PAPP-A (mUI/L)
8	48	299
9	73	492
10	61	960
11	46	1635
12	36	2559
13	28	3882
14	19	5867

Taula 2. Valors mediana del marcador ecogràfic de la setmana gestacional de la gestant utilitzats pel càlcul dels MoM.

Valors de CRL	TN
40	1,13
45	1,24
50	1,34
55	1,45
60	1,56
65	1,66
70	1,75
75	1,84
80	1,82

En cas que el risc sigui elevat ( $\pm 1/250$ ), el laboratori informa amb urgència la o el professional sanitari, el qual ha de disposar de l'informe en un termini màxim de 48 hores des de l'extracció. En el cas de risc baix ( $< 1/250$ ), el termini per tal que la o el professional sanitari disposi de l'informe pot ser, com a màxim, de 5 dies (Servei Català de la Salut, 2008).

En la figura 4, es mostra un esquema del funcionament del processat de dades pel càlcul del cribratge prenatal. L'aparell Cobas e-411 transmet els resultats de les determinacions bioquímiques fetes per a cada mostra al laboratori directament al sistema informàtic del laboratori (SIL) OMEGA 3000 (Roche Diagnostics). Els informes arriben dels diferents hospitals: en l'hospital Dr. Josep. Trueta i de Santa Caterina els professionals tenen accés al programari SsdwLab 6.0 i introdueixen les dades directament des de la consulta externa; però els Hospitals de Figueres, d'Olot i de Campdevànol envien l'informe ecogràfic en paper al Laboratori Clínic Territorial de Girona que entrarà manualment les dades al programa de càlcul. Quan el cas de la pacient té la informació dels valors bioquímics, ecogràfics i d'hàbits el programa fa automàticament el càlcul del risc, que una vegada validat passarà al SIL.



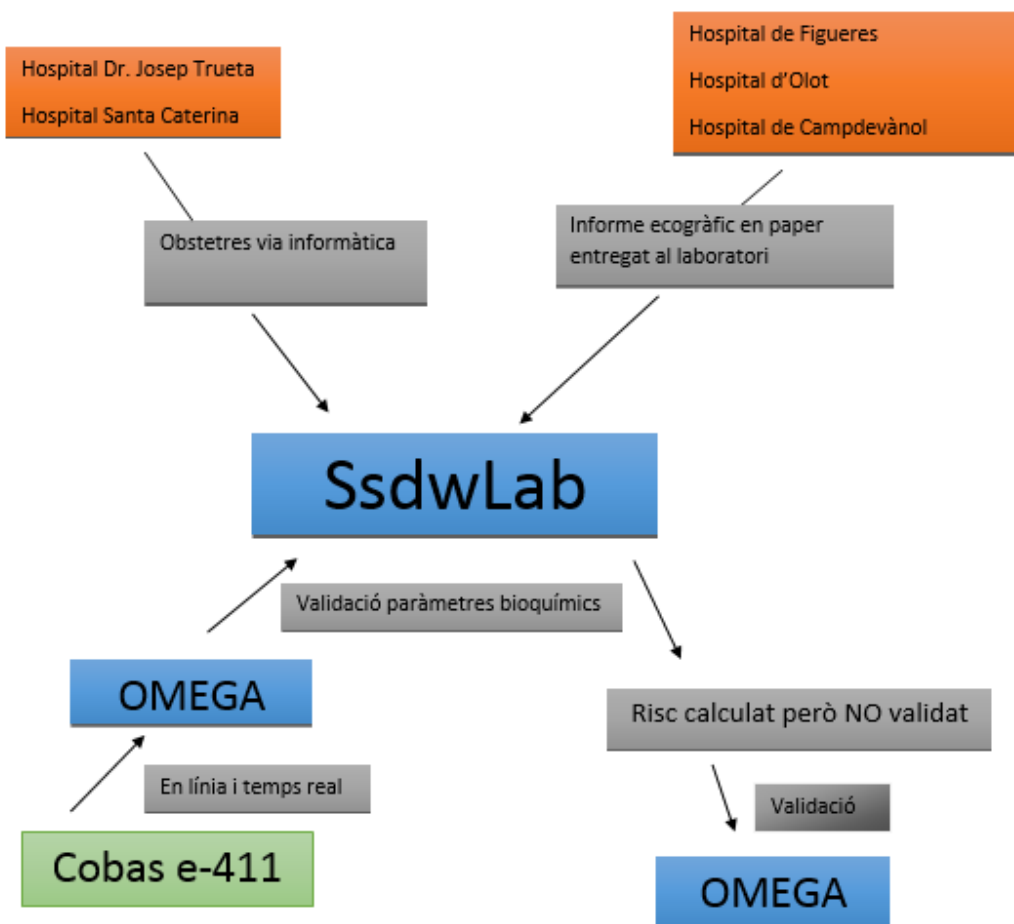


Figura 4. Esquema del flux de dades pel cribratge prenatal.

### 3.4. Treball de camp i indicadors estadístics emprats

- Es va fer el càlcul del nombre de determinacions analítiques fetes per al cribratge del 1er i 2on trimestres de gestació, i el recompte del nombre de cribratges, la seva procedència i el nombre de rebuigs a la prova invasiva. Consulta feta a OMNIUM, eina de consulta del SIL (OMEGA 3000)
- Es va fer el càlcul dels indicadors de qualitat del programa següents: la sensibilitat (TD) que es va avaluar amb el percentatge de detecció de cariotips patològics i l'especificitat que es va avaluar amb la taxa de cribratges positius (TCP), de casos no detectats i de la mediana dels MoM per la fβ-hCG, PAPP-A i TN.
- Es varen consultar als centres peticionaris els resultats dels cariotips de cribratges positius i dels resultats perinatals, i el motiu de cribratges no calculats a causa d'ecografies pendents. També redacció d'un informe pels serveis d'obstetrícia corresponents.
- Per l'avaluació de l'activitat que suposaria la implementació del cribratge d'aneuploïdies no invasiu en sang materna en el Laboratori Clínic Territorial de Girona, es van extreure les dades d'OMEGA i es va fer un càlcul dels riscos intermedis i alts. També es va redactar un informe dirigit al cap de servei del Laboratori Clínic Territorial de Girona.

## 4. RESULTATS I DISCUSSIÓ

Exposo els resultats en el mateix ordre que els objectius proposats: l'avaluació del programa de cribratge, l'anàlisi dels motius de cribratges no calculats per falta d'ecografia i l'anàlisi de l'activitat que suposarà la incorporació del DNA fetal a l'algoritme de diagnòstic prenatal.

### 4.1. Avaluació del cribratge de primer trimestre de gestació

#### 4.1.1. Cribratges fets i procedència

S'exposen els cribratges realitzats i la procedència, el nombre de cribratges positius calculats i el posterior seguiment gestacional, els cariotips patològics detectats i els indicadors de qualitat.

El nombre de determinacions bioquímiques realitzades al 2017 va ser de 3.407 i el nombre de cribratges calculats va ser de 3.142; aquesta diferència entre els cribratges calculats i realitzats és deguda a què, per diversos motius, l'ecografia obstètrica del primer trimestre no es va arribar a fer, però aquesta anàlisi es desenvolupa en l'objectiu 2.

En el gràfic (Figura 5) es pot observar la procedència dels cribratges del primer trimestre, on els clients majoritaris de l'Àrea de Cribratge Prenatal d'Aneuploïdies provenen de l'Hospital Dr. Josep Trueta (993 cribratges, el que representa un 31,6% del total), l'Hospital de Santa Caterina (886 cribratges, 28,2%) i l'Hospital de Figueres (801 cribratges, 25,5%). En menor proporció es varen trobar els cribratges duts a terme a l'Hospital d'Olot (318 cribratges, 10,1%) i l'Hospital de Campdevàrol (106 cribratges, 3,4%).

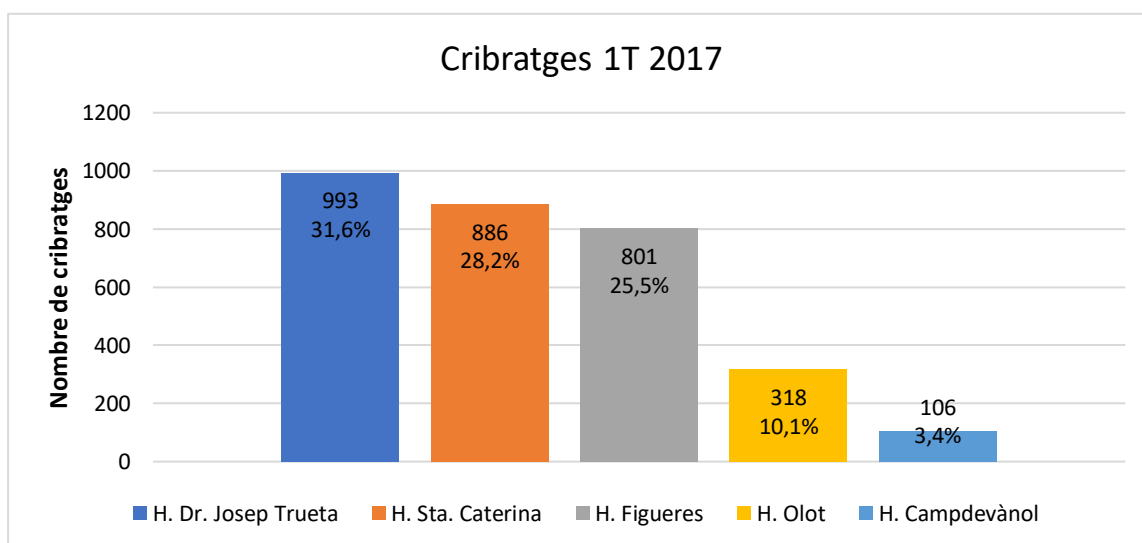


Figura 5. Proporcions i percentatge de la procedència dels cribratges de 1er trimestre de l'any 2017.

Aquests resultats són deguts principalment a la magnitud de l'àrea d'influència, és a dir, en centres amb major àrea d'influència els cribratges demanats són molts més que en centres comarcals. Aquesta relació se segueix durant els últims anys tal i com indica la taula 3.

Taula 3. Percentatge procedència dels cribratges del 1er trimestre durant el període 2013-2017.

Centre	Any 2013	Any 2014	Any 2015	Any 2016	Any 2017
H. Dr. Josep Trueta	30,27%	30%	32%	28%	31,6%
H. de Santa Caterina	28,24%	29%	30%	27%	28,2%
H. de Figueres	25,57%	26%	25%	26%	25,5%
H. d'Olot	10,2%	10%	10%	13%	10,1%
H. de Campdevàrol	4,73%	5%	3%	4%	3,4%

#### 4.1.2. Cribratges positius i seguiment

La taula 4, indica el nombre de cribratges positius, que van ser 119, que suposa un 3,79% respecte del total de cribratges determinats (N= 3.142). El rebuig a la prova invasiva va ser de 25 casos (21%), i els cariotips anòmals van ser 14 (11,76%).

Taula 4. Seguiment dels cribratges positius del cribratge de 1er trimestre de l'any 2017

	Nombre	%
<b>Cribratges positius (TCP)</b>	119/3.142	3,79
<b>Rebuig a la prova invasiva</b>	25/119	21
<b>Cariotips anòmals</b>	14/119	11,76

En la taula 5 trobem els valors de la taxa de cribratges positius del primer trimestre dels darrers cinc anys.

Taula 5. Taxa de cribratges positius de 1er trimestre durant el període 2013-2017.

Indicador de qualitat	Any 2013	Any 2014	Any 2015	Any 2016	Any 2017
<b>TCP (%) tall 1/250</b>	1,50%	2,3%	2,7%	3,8%	3,79%

La taxa de cribratges positius és un indicador d'especificitat del programa, i el que s'observa és que al llarg dels anys aquesta ha anat augmentant però sempre dins del rang que marca la Instrucció del CatSalut 07/2008, que és d'un 5%.

#### 4.1.3. Resultats dels cariotips patològics

El diagnòstic d'aneuploidia mitjançant cariotip/cribratge no invasiu en sang materna al 2017 va ser positiu en 14 casos: 8 casos de T21, 3 casos de T18 i 3 casos d'anomalies en cromosomes sexuals (un cas de Síndrome de Klinefelter (47, XXY), un cas de Síndrome de Turner (45, X) i un cas d'una triploidia (taula 6)).

Taula 6. Resultat dels cariotips patològics dels cribratges positius de 1er trimestre del 2017

Número de Cas	Anomalia cromosòmica	Centre peticionari	**MoM fβ-hCG	MoM PAPP-A	MoM TN	Risc T21	Risc T18	Edat Materna	Seguiment
18	47,XX, +21	Trueta	2,45	0,59	2,23	5	2957	36	*IVE
24	47,XX, +18	Santa Caterina	2,56	1,1	1,67	135	100000	37	Avort post-procediment invasiu
30	TRIPLOIDIA	Santa Caterina	3,57	1,03	3,81	5	12	33	Es desconeix
34	47,XY, +21	Trueta	1,6	0,83	3,74	5	5	39	IVE
35	47,XX, +21	Figueres	0,93	0,84	3,39	5	5	42	Es desconeix
54	47,XXY	Trueta	2,1	0,45	0,82	158	100000	38	Naixement
55	45, X	Santa Caterina	6,01	1,41	6,65	5	5	37	IVE
79	47,XY, +21	Trueta	2,14	0,29	0,72	27	21605	38	Naixement
90	47,XY, +21	Trueta	1,9	0,34	1,97	9	5025	26	IVE
105	47,XX, +18	Olot	0,2	0,18	1,13	381	8	40	Es desconeix
112	47,XX, +18	Santa Caterina	0,46	0,75	2,1	93	349	37	Avort post-procediment invasiu
119	47,XY, +21	Trueta	0,93	0,35	1,17	154	18072	35	IVE

\*IVE: interrupció voluntària de l'embaràs

\*\*MoM: Múltiples de la mediana.

Per altra banda en la taula 7 es mostren els resultats dels cariotips patològics dels cribratges falsos negatius en el primer trimestre de gestació.

Taula 7. Resultat dels cariotips patològics dels cribratges falsos negatius de 1er trimestre del 2017

Número de Cas	Anomalia cromosòmica	Centre peticionari	MoM fβ-hCG	MoM PAPP-A	MoM TN	Risc T21	Risc T18	Edat Materna	Seguiment
120	47, XX, +21	Trueta	1,224	0,586	0,94	1505	100000	37	IVE
121	47, XX, +21	Santa Caterina	1,374	1,048	1,446	327	100000	40	IVE

En el cribratge de 1er trimestre s'han detectat tres anomalies cromosòmiques que estan fora de l'abast del programa de cribratge: una triploïdia, una Síndrome de Klinefelter i una Síndrome de Turner. Per tant aquestes deteccions són fortuïtes. Probablement, es deu al fet de què qualsevol anomalia cromosòmica es tradueix en un metabolisme fetal anòmal i per tant pot portar igualment a una bioquímica fetal alterada en sang materna.

En el cas de la Síndrome de Turner, generalment tenen valors de PAPP-A relativament normals, proximals a valors d'1MoM (0,99MoM) i una fβ-hCG amb un lleu increment (1,2MoM). Les triploïdies poden afectar també a aquests marcadors bioquímics que s'utilitzen en el cribratge prenatal, diferenciant l'efecte segons si els cromosomes provenen del pare, on trobem valors de PAPP-A sobre 0,74MoM o relativament normals i valors de fβ-hCG molt elevats (8,7MoM); en canvi si provenen de la mare els nivells dels dos marcadors seran molt baixos (0,06 MoM la PAPP-A i 0,16 MoM la fβ-hCG) (Naveiro i Manzanares, 2011)

Fent el càlcul de risc per separat d'aquests dos casos, és a dir, només amb marcadors bioquímics o ecogràfics, podem observar que en el primer cas (120, Taula 7) només

tenint en compte la bioquímica ens dona un risc intermedi (1:293) per la trisomia 21; en canvi en el segon cas (121, Taula 7), quan fem el càlcul només tenint en compte la bioquímica segueix donant un risc intermedi (1:336), però si només tenim en compte el marcador ecogràfic ens dona un risc de 1:100, per tant dona un risc positiu per trisomia 21.

En el nostre laboratori s'utilitza el cribratge combinat bioquímic - ecogràfic perquè està bibliogràficament comprovat que té un major rendiment de detecció, però aquests resultats ens indiquen que la ciència no és exacta i ens podem trobar amb casos on falla tot el conjunt de valors pel càlcul de risc (primer cas) o casos on fent el càlcul de risc només per un determinat tipus de marcador sí donaria risc augmentat (segon cas).

#### 4.1.4. Indicadors de qualitat

Els indicadors de qualitat calculats (taula 8) mostren una estimació de l'efectivitat del cribratge de primer trimestre on la sensibilitat es va avaluar amb el percentatge de detecció de cariotips patològics i l'especificitat es va avaluar a partir de la taxa de cribratges positius (TCP); també inclou un percentatge de casos no detectats per a cada aneuploïdia.

Taula 8. Estimació de l'efectivitat del cribratge combinat del 1er trimestre 2017

Indicadors de qualitat aneuploïdies	T21	T18/T13
<b>Detecció (%)</b>	6/8 (75%)	3/3 (100%)
<b>Casos no detectats (%)</b>	2/8 (25%)	0%
<b>TCP (%) tall 1/250</b>	116 / 3.142 (3,69%)	14/3.142 (0,45%)

La taxa de detecció total (per al conjunt de T21, T18 i T13) és de 9/11 (82%) i la taxa de cribratges positius total en nombre de casos és de 119/3.142 (3,79%). La suma dels cribratges positius de T21 (116) + T18/T13 (14) no suma 119 donat que hi ha casos que donen positiu per els tres tipus d'aneuploïdies. Les dades de sensibilitat i especificitat de l'any 2017 es troben dins del marc indicat per la Instrucció del CatSalut 07/2008.

En la taula 9 trobem els valors del percentatge de detecció del primer trimestre dels darrers cinc anys.

Taula 9. Percentatge dels indicadors de qualitat dels cribratges del 1er trimestre durant el període 2013-2017

Indicador de qualitat	Any 2013	Any 2014	Any 2015	Any 2016	Any 2017
<b>Detecció (%)</b>	66,7%	83,3%	100%	80%	82%

L'anàlisi retrospectiva dels últims anys indica que la sensibilitat del programa sempre ha estat satisfactòria.

#### 4.1.5. Mediana dels MoM dels marcadors bioquímics i ecogràfics

En les figures 6, 7 i 8 es poden veure fragments de l'informe, per cada marcador (f $\beta$ -hCG, PAPP-A i TN) respectivament, extrets del programari SsdwLab 6.0 on s'indiquen les mitjanes dels MoM de l'any 2017 totals corregides i no corregides amb els respectius nombres de mostres per cada cas. També s'indica quins filtres han estat aplicats per l'obtenció de les dades

### Beta hCG lliure / Setmanes de Gestació

SsdwLab 6: 14/05/2018 10:32:5

#### Resultats

Marcador: Beta hCG lliure

Nombre total de mostres: 3011

Mediana MoM Corregits: 1,077 | IC 95% (1,051 - 1,111)

Mediana MoM No Corregits: 1,086 | IC 95% (1,055 - 1,118)

#### Filtres Aplicats

Rang de Dates: [01/01/2017 - 31/12/2017]

Centre: H. Josep Trueta

Validació: Només Validats

Nombre de fetus: Només gestació simple

Perfil: Combinat Primer Trim. ROCHE 2016 ICS

Marcador: Beta hCG lliure

Rang de MoM acceptat: [0.1 - 10]

Figura 6. Informe extret del programari SsdwLab 6 dels resultats de la mediana dels MoM corregits pel marcador bioquímic f $\beta$ -hCG.

## PAPP-A / Setmanes de Gestació

SsdwLab 6: 14/05/2018 10:34:35

### Resultats

Marcador: PAPP-A

Nombre total de mostres: 3012

Mediana MoM Corregits: 0,99 | IC 95% (0,969 - 1,011)

Mediana MoM No Corregits: 0,977 | IC 95% (0,952 - 1,006)

### Filtres Aplicats

Rang de Dates: [01/01/2017 - 31/12/2017]

Centre: H. Josep Trueta

Validació: Només Validats

Nombre de fetus: Només gestació simple

Perfil: Combinat Primer Trim. ROCHE 2016 ICS

Marcador: PAPP-A

Rang de MoM acceptat: [0.1 - 10]

Figura 7. Informe extret del programari SsdwLab 6 dels resultats de la mediana dels MoM corregits pel marcador bioquímic PAPP-A.

## Translucidesa Nucal / Setmanes de Gestació

SsdwLab 6: 14/05/2018 10:35:34

### Resultats

Marcador: Translucidesa Nucal

Nombre total de mostres: 3017

Mediana MoM Corregits: 0,826 | IC 95% (0,816 - 0,836)

Mediana MoM No Corregits: 0,826 | IC 95% (0,816 - 0,836)

### Filtres Aplicats

Rang de Dates: [01/01/2017 - 31/12/2017]

Centre: H. Josep Trueta

Validació: Només Validats

Nombre de fetus: Només gestació simple

Perfil: Combinat Primer Trim. ROCHE 2016 ICS

Marcador: Translucidesa Nucal

Rang de MoM acceptat: [0.1 - 10]

Figura 8. Informe extret del programari SsdwLab 6 dels resultats de la mediana dels MoM corregits pel marcador ecogràfic TN

Les taules 8 i 9 indiquen els resultats de les medianes dels MoM per cada setmana gestacional i pels càlculs de risc dels cribratges corregits (C) i no corregits (NC). En el cas de la taula 10, indica els resultats per cada mesura en mil·límetres de CRL (interval de 5mm) i els totals.

Taula 8. Resultats de la mediana dels MoM corregits (C) i no corregits (NC) per cada setmana de gestació pel marcador bioquímic f $\beta$ -hCG.

Setmanes de gestació	Mostres	Mediana MoM (C)	Mediana MoM (NC)
8	134	1,115	1,176
9	489	1,053	1,072
10	695	1,076	1,084
11	464	1,044	1,034
12	818	1,051	1,062
13	411	1,205	1,235
14	0	0	0
TOTAL	3011	1,077	1,086

Taula 9. Resultats de la mediana dels MoM corregits (C) i no corregits (NC) per cada setmana de gestació pel marcador bioquímic PAPP-A.

Setmanes de gestació	Mostres	Mediana MoM (C)	Mediana MoM (NC)
8	134	1,045	1,01
9	489	1,044	1,012
10	696	0,952	0,962
11	464	0,969	0,975
12	818	0,97	0,954
13	411	1,017	1,023
14	0	0	0
TOTAL	3012	1,99	0,977

Taula 10. Resultats de la mediana dels MoM corregits (C) i no corregits (NC) per cada interval de mesura de CRL pel marcador ecogràfic TN.

mm de CRL	Mostres	Mediana MoM (C)	Mediana MoM (NC)
40-45	8	0,906	0,905
45-50	168	0,842	0,842
50-55	462	0,84	0,84
55-60	673	0,812	0,812
60-65	701	0,814	0,814
65-70	490	0,843	0,843
70-75	298	0,824	0,824
75-80	176	0,812	0,812
80-85	40	0,857	0,857
TOTAL	3017	0,826	0,826

Els valors de les medianes anuals dels MoM de la f $\beta$ -hCG(1,077) i de la PAPP-A (0,99) ens indiquen que es troben molt ajustats al voltant del valor teòric ideal d'1, admetent com a màxim una variació del 10% (+/- 0,1); això evidencia un bon control de qualitat



diari que es fa al laboratori a partir de materials de control intern i que assegura una adequada calibració analítica de les metodologies emprades.

La mediana anual del MoM de la TN pel 2017 (0,826) resulta lleugerament inferior a l'especificació demanada d'1, i aquest és un fet que s'observa en la pràctica diària. La discussió sobre aquest valor s'escapa del nostre abast. Sí sabem que el CatSalut està treballant amb el col·lectiu d'ecografistes en un control periòdic de la mediana personal dels MoM de la TN.

#### 4.2. Avaluació del cribratge de segon trimestre de gestació

##### 4.2.1. Cribratges fets i procedència.

El nombre de determinacions realitzades i cribratges calculats al 2017 va ser de 327. Al següent gràfic (figura 9) s'exposa la procedència dels clients de l'Àrea de Cribratge Prenatal d'Aneuploïdies, on aquesta és majoritàriament a l'Hospital de Figueres (104 cribratges, el que representa un 31,8% del total), l'Hospital Dr. Josep Trueta (91 cribratges, 27,8%) i l'Hospital Santa Caterina (90 cribratges, 27,5%). En menor proporció, igual que en el cas dels cribratges de primer trimestre, trobem els Hospitals d'Olot (37 cribratges, 11,3%) i Hospital de Campdevàrol (5 cribratges, 1,5%)

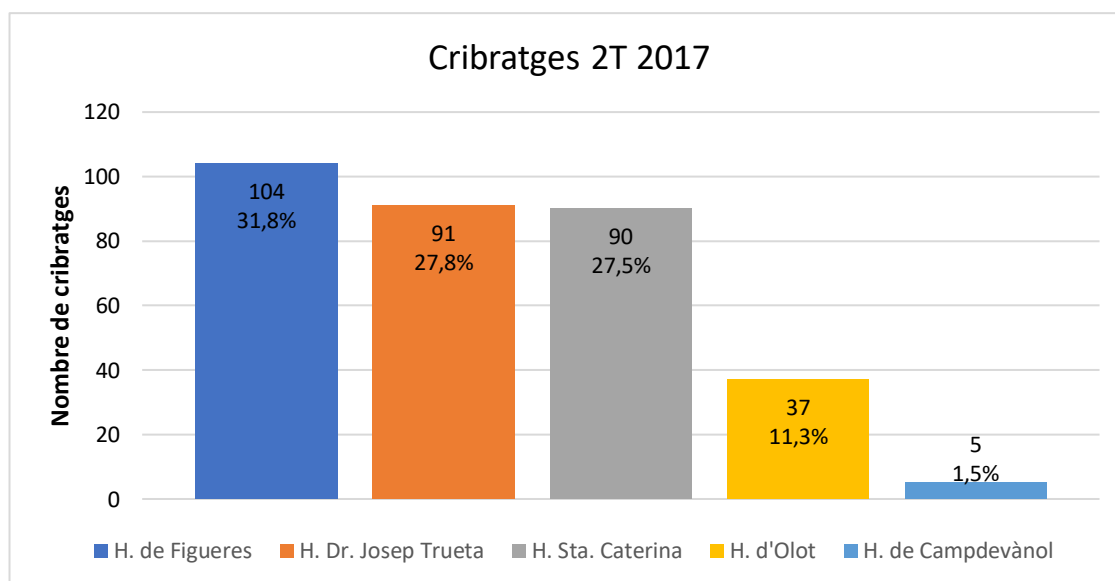


Figura 9. Proporcions i percentatge de la procedència dels cribratges de 2n trimestre de l'any 2017

Aquests resultats, igual que en el cas del primer trimestre, són deguts principalment a la magnitud de l'àrea d'influència de cada centre peticionari, és a dir, en àrees de major magnitud hi ha un nombre de població existencial major i com a conseqüència això va relacionat amb la magnitud del centre i el número de cribratges realitzats respectivament. Aquesta relació se segueix durant els últims anys com indica la taula 11.

Taula 11. Percentatge de procedència dels cribratges del 2n trimestre durant el període 2013-2017

Centre	Any 2013	Any 2014	Any 2015	Any 2016	Any 2017
H. Dr. Josep Trueta	29,5%	38%	27,4%	34%	27,8%
H. de Santa Caterina	35,4%	32%	34,5%	24%	27,5%
H. de Figueres	22,5%	24%	26%	21,5%	31,8%
H. d'Olot	11,3%	6%	10,8%	9%	11,3%
H. de Campdevàrol	1,3%	0%	1,3%	0,3%	1,5%

L'anàlisi dels darrers anys mostra que les proporcions de les demandes es mantenen amb el temps.

#### 4.2.2. Cribratges positius i seguiment

Els cribratges positius del segon trimestre al 2017 van ser 30 (9,17%) i d'aquests 10 (33,33%) van rebutjar la prova invasiva. No es varen trobar cariotips anòmals (taula 12).

Taula 12. Seguiment dels cribratges positius del cribratge de 2n trimestre l'any 2017

	Nombre	%
<b>Cribratges positius</b>	30/327	9,17
<b>Rebuig a la prova invasiva</b>	10/30	33,33
<b>Cariotips anòmals</b>	0/30	0

En la taula 13 trobem els valors de la taxa de cribratges positius del 2n trimestre dels darrers cinc anys.

Taula 13. Taxa de cribratges positius de 2n trimestre durant el període 2013-2017.

Indicador de qualitat	Any 2013	Any 2014	Any 2015	Any 2016	Any 2017
<b>TCP (%) tall 1/250</b>	8,72%	11,8%	7,8%	7,4%	9,17%

La taxa de cribratges positius de l'any 2017 va ser 9,17%, superior a l'especificació aconsellada per la Instrucció del CatSalut 07/2008 del 5%. Per altra banda, veiem que en anys anteriors també es van donar taxes superiors. Això ens suposa un augment del nombre de proves invasives que s'han de fer i per tant un augment del cost econòmic i de la probabilitat d'avortaments post procediment invasiu.

#### 4.2.3. Resultats dels cariotips patològics

L'any 2017 no es va detectar cap cariotip patològic pel cribratge del segon trimestre.

#### 4.2.4. Indicadors de qualitat

Els indicadors de qualitat que estimen l'efectivitat del cribratge combinat del 2n trimestre de gestació (taula 14), són els mateixos calculats pel cribratge del 1r trimestre (taula 6)

Taula 14. Estimació de l'efectivitat del cribratge combinat del 2n trimestre 2017

Indicadors de qualitat aneuploïdies	T21	T18/T13
Detecció (%)	-	-
Casos no detectats (%)	-	-
TCP (%) tall 1/250	23/327 (7,03%)	3/327 (1,22%)

Com podem observar en la taula 14, no es va detectar cap cas de trisomia 21, 18 i 13 i per conseqüència no es pot fer la valoració de la sensibilitat del programa.

En la taula 15 trobem els valors del percentatge de detecció del primer trimestre dels darrers cinc anys.

Taula 15. Percentatge dels indicadors de qualitat dels cribratges del 2n trimestre durant el període 2013-2017

Indicador de qualitat	Any 2013	Any 2014	Any 2015	Any 2016	Any 2017
Detecció (%)	100% (1/1)	No valorable	100% (1/1)	100% (2/2)	No valorable

Pels anys anteriors el percentatge de detecció va ser del 100% perquè els casos eren molt escassos tal i com s'indica en la taula.

#### 4.3. Cribratges no calculats per ecografies pendents

En la figura 10, es representa per mitjà d'un gràfic els motius pels quals hi ha 265 cribratges que no tenen índex de càlcul de risc.

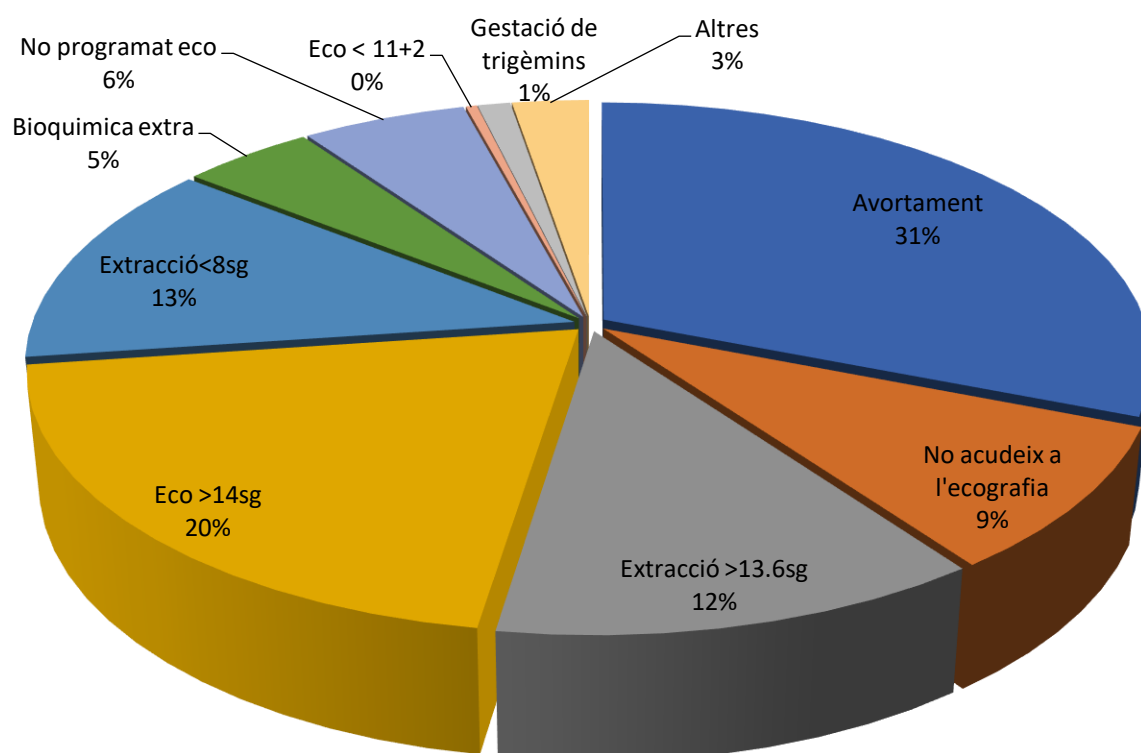


Figura 10. Representació de les proporcions corresponents als motius pels quals no s'ha dut a terme el càlcul de risc en els cribratges.

Aquesta figura ens indica que la gran majoria de cribratges del 2017 que no s'arriben a calcular, és principalment per un avortament (31%) perquè el fetus és inviable. Altres causes habituals són que l'ecografia es realitza passades les 14 setmanes de gestació (20%) i per tant no entra dins dels paràmetres per poder fer un càlcul de risc segons la Instrucció 07/2008, que l'extracció de la mostra s'ha realitzat passades les 13+6 setmanes (12%) o bé que s'hagi realitzat abans de les 8 setmanes gestacionals. En menor proporció trobem un 9% dels casos on la pacient decideix no acudir a l'ecografia o bé no es realitza la programació de l'ecografia (6%). Per últim trobem que el 5% dels casos són deguts a que s'ha realitzat una bioquímica extra o bé per altres causes (3%), que engloba l'anul·lació de la petició per part del centre entre altres. A més trobem 3 casos que representen un 1% on la gestació és de trigèmins, és a dir, un embaràs múltiple en el que es formen tres fetus, en aquests casos no es pot determinar el risc perquè no disposem de medianes poblacionals. Per últim trobem 1 cas on es va fer l'ecografia abans de les 11+2 setmanes (CRL <45mm) i que representa una proporció mínima dels casos.

El següent gràfic (figura 11) ens compara els diferents orígens peticionaris per les causes "extracció <8sg" i "ecografia >14sg", on podem veure que ens els dos motius els centres majoritaris són l'Hospital Dr. Josep Trueta i l'Hospital de Santa Caterina.

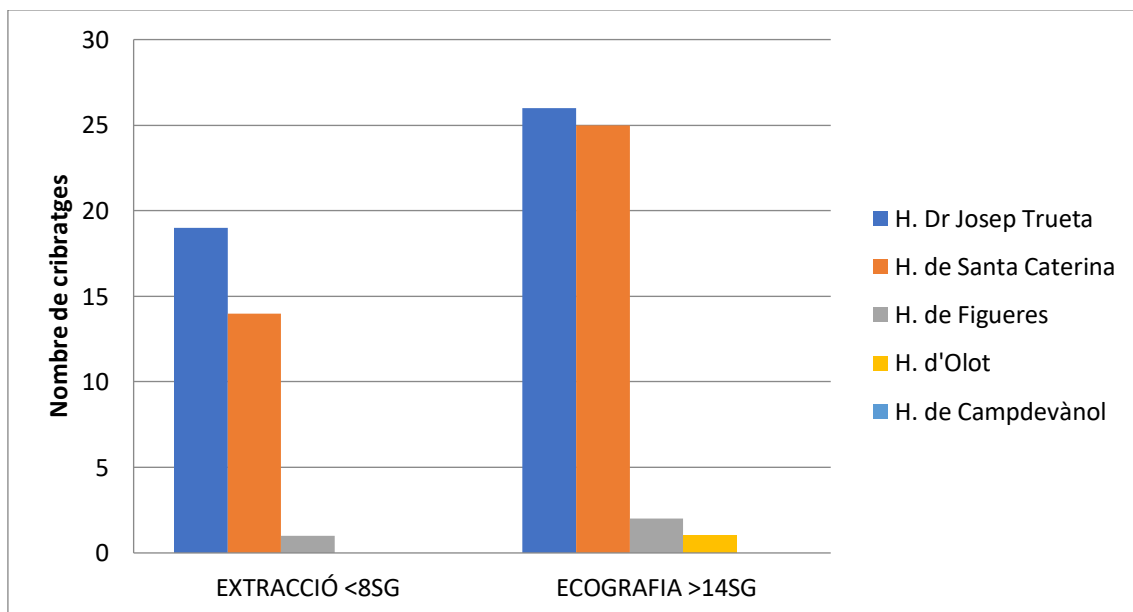


Figura 11. Representació gràfica de la procedència dels cribratges dels casos no calculats per ecografies pendents per les causes "Extracció < 8sg" i "Ecografia >14sg".

La taula 16 ens representa els diferents orígens peticionaris per la causa "bioquímica extra", on podem veure que aquests casos es divideixen únicament en l'Hospital Dr. Josep Trueta i l'Hospital de Santa Caterina.

Taula 16. Origen peticionari dels casos no calculats per ecografies pendents per la causa "Bioquímica extra".

<b>Origen Peticionari</b>	<b>Nombre de mostres</b>
H. Dr. Josep Trueta	8
H. de Santa Caterina	4
H. de Figueres	0
H. d'Olot	0
H. de Campdevàrol	0

El motiu d'aquesta diferència entre els diferents orígens per aquestes causes és que en els centres més grans en el moment en què es duu a terme la primera visita i es realitza la datació de l'última regla (DUR) majoritàriament no es fa una ecografia per confirmar les dades que dona la pacient, ja que fan un nombre de cribratges molt alt i logística i econòmicament no és viable de fer aquesta ecografia. En els hospitals més petits com serien els de Figueres, Olot i Campdevàrol, sí fan aquesta ecografia i per tant tenen la datació gestacional comprovada per ecografia, la qual cosa permet fer una bona programació de l'extracció i de l'ecografia del 1r trimestre.

En la següent figura (figura 12) es presenta l'informe en format carta, enviada als serveis d'Obstetrícia amb recomanacions i possibles accions de millora pels motius de cribratges no calculats a causa d'ecografies pendents.



Girona, 17 de maig de 2018

A l'atenció de: **Dr. X**  
Cap de Servei d'Obstetrícia – Hospital Y

De: **Dra. Mercè Alsius Suñer**  
Adjunta Responsable de l'Àrea de Cribratge Prenatal d'Aneuploidies  
**Marc Jiménez Castro**  
Estudiant de la Universitat de Girona, realitzant el TFG del Grau en Biologia.

Assumpte:

Des de l'Àrea de Cribratge Prenatal d'Aneuploidies i dins del context del treball de fi de grau (TFG) de l'estudiant de la UdG Marc Jiménez Castro en aquesta àrea de coneixements, s'ha fet una anàlisi de les causes dels cribratges no calculats per ecografia pendent i poder fer-vos alguna recomanació de millora si fora possible.

A partir de l'anàlisi dels motius dels cribratges no calculats de l'any 2017 s'ha comprovat que un 45% dels casos es deuen a una datació imperfecta de l'edat gestacional per DUR, que implica en aquests casos una incorrecta programació de l'extracció de sang materna i ecografia de primer trimestre pel càlcul de risc de trisomies fetals. En concret aquest 45% dels casos es desglossen en:

- Un 13% dels casos que l'extracció es va fer abans de les 8 setmanes gestacionals
- Un 12% que l'extracció es va fer passades les 13 + 6 setmanes gestacionals.
- Un 20% que l'ecografia de primer trimestres es va fer passades les 14 setmanes gestacionals.

Adicionalment en un 9% dels casos la pacient no va acudir a l'ecografia, en un 31% dels casos hi va haver un avortament previ a l'ecografia de primer trimestre i en un 5% dels casos es va fer una extracció de sang per a marcadors bioquímics extra.

Davant d'aquests indicadors i des de la nostra àrea fem les següents reflexions per si us poden ser d'interès:

1. Les causes de cribratges no calculats degudes a una mala datació de l'edat gestacional per DUR es podrien minimitzar, si fos possible, fent una datació ecogràfica en la primera visita de la gestant al seu centre d'atenció primària. Som conscients que aquesta proposta no és sempre factible a nivell logístic.

2. La causa de cribratges no calculats deguda a una extracció de sang extra a la gestant sovint respon a la reprogramació d'extracció + ecografia de primer trimestre quan el fetus no té una LCC mínima de 45mm, que correspon a les 11+2 setmanes mínimes per poder datar la gestació i fer la mesura de la TN. Recordem que en aquests casos si l'extracció de sang s'ha fet amb un mínim de 8 setmanes gestacionals no és necessari de repetir-la, només caldrà repetir l'ecografia de primer trimestre.

Atentament,

Mercè Alsius Suñer

Marc Jiménez Castro



Figura 12. Informe redactat sobre els motius dels cribratges no calculats per ecografia pendent i possibles accions de millora enviada als serveis d'Obstetrícia.

Aquest informe redactat a partir de l'anàlisi de resultats dels motius de cribratges no calculats per ecografia pendent es fa per un motiu de control de despeses, ja que s'està treballant en un àmbit de servei públic. Les determinacions que no han estat calculades han passat per un procés de càlculs de marcadors bioquímics ( $\text{f}\beta\text{-hCG}$  i PAPP-A), que suposa un cost econòmic per la utilització dels reactius, que no acaba en un resultat vàlid per proporcionar a la pacient i al clínic peticionari.

#### 4.4. Càlcul aproximat de la previsió anual de determinacions de DNA fetal en sang materna peticionades pel nostre laboratori segons l'algoritme diagnòstic del CatSalut del 2017

En la figura 13, es presenta l'informe en format carta de possibles accions de millora enviada al Cap de Servei del Laboratori Clínic Territorial de Girona.



Girona, 16 de maig de 2018

A l'atenció de: **Dr. Xavier Queralt Moles**  
Cap de Servei del Laboratori Clínic Territorial de Girona

De: **Dra. Mercè Alsius Suñer**  
Adjunta Responsable de l'Àrea de Cribratge Prenatal d'Aneuploïdies  
**Marc Jiménez Castro**  
Estudiant de la Universitat de Girona, realitzant el TFG del Grau en Biologia.

Assumpte:

Un dels objectius que ens hem proposat en el treball de final de grau (TFG) d'en Marc Jiménez Castro, ha estat de fer una anàlisi de quina implicació en augment d'activitat (de la qual se'n derivarà un cost econòmic) tindrà la incorporació de la prova de DNA fetal lliure en sang materna per conèixer el risc d'aneuploïdia fetal en la gestant.

Donat que el Departament de Salut contempla les dues següents indicacions:

- En resultats de cribratge prenatal amb risc intermedi (entre 1:251 i 1:1100), s'oferirà a la gestant la possibilitat de determinar el DNA fetal i posterior confirmació diagnòstica de casos positius amb un cariotip convencional.
- En resultats de cribratge prenatal amb risc alt (entre 1:10 i 1:250), es podrà triar entre la determinació de DNA fetal i posterior confirmació diagnòstica de casos positius amb cariotip convencional; o bé la realització del cariotip convencional.

Hem fet el càlcul del nombre de cribratges amb risc intermedi i alt per a les tres trisomies 21, 18 i 13 a les quals s'oferiria el DNA fetal, del total de cribratges determinats a l'àrea l'any 2017. Els resultats són els següents:

Taula: Cribratges amb risc intermedi (entre 1:251 i 1:1100) per a cada aneuploïdia de l'any 2017.

Risc Intermedi	Trisomia 21	Trisomies 18/13
Cribratge 1r trimestre	249	17
Cribratge 2n trimestre	46	7
TOTAL	295	24



Taula: Cribratges amb risc alt (entre 1:10 i 1:250) per a cada aneuploidia de l'any 2017.

Risc Alt	Trisomia 21	Trisomies 18/13
Cribratge 1r trimestre	101	7
Cribratge 2n trimestre	22	4
TOTAL	123	11

Els nombres de determinacions de DNA fetal presentats representen valors màxims, donat que els nostres càlculs tenen la limitació de què la realització de l'algoritme aprovat pel CatSalut sempre dependrà de la voluntat última de la gestant.

En conclusió, considerem que la incorporació de la prova de DNA fetal lliure en el diagnòstic prenatal a la nostra àrea suposarà com a màxim 319 determinacions per risc intermedi i 134 determinacions per risc alt.

Atentament,

Mercè Alsius Suñer

Marc Jiménez Castro



Figura 13. Informe redactat sobre la introducció de la prova de detecció DNA fetal en sang materna enviada al cap de servei del Laboratori Clínic Territorial de Girona.

Aquest informe ha estat redactat a partir de l'anàlisi de cribratges amb resultats de riscos intermedis i alts. S'ha dut a terme perquè la direcció del laboratori ha volgut conèixer (i així ho va expressar a la Dra. Mercè Alsius com a responsable de l'àrea) quina serà la despesa econòmica de la incorporació del DNA fetal en sang materna en l'algoritme de diagnòstic prenatal aprovat el CatSalut a finals del 2017. La direcció del laboratori té clar que tot i ser una despesa econòmica addicional tindrà un rendiment a nivell del diagnòstic prenatal.

## 5. CONCLUSIONS

Based on the results and the discussion made in this work, we conclude:

1. The number of requests for prenatal screenings by provenance, both at the level of the 1st quarter and the 2nd, is maintained proportionally constant to the magnitude of the influence area of the petition centers, where the Hospital Dr. Josep Trueta, the Hospital of Santa Caterina and the Hospital of Figueres, which have the highest number of determinations.
2. The specificity of the program is greater in the 1st quarter (screening rate of 3.79%) than in the 2nd quarter (rate of positive screening of 9.17%), and this fact is evident in the bibliography. This explains why the Instruction of CatSalut 07/2008 indicates that the screening of the 1st quarter is the first line and the second quarter is the residual option.
3. The sensitivity of the screening program for the first trimester of pregnancy shows a detection rate of 82% (9 cases of trisomy detected from the 11 real ones that existed in 2017) which is satisfactory according to the specification of the minimum of 5% indicated by Instruction 07/2008 of CatSalut. For the 2<sup>nd</sup> trimester program, no assessment could be made since all cases of screening with increased risk resulted in false screening positives.
4. Almost the 50% of the not calculated screenings by pending ultrasound are due to an imperfect date of gestational age, which implies the incorrect programming of the extraction and ultrasound screening for the 1st quarter. The action to write a letter of possible recommendations to the clinic petitioners responds to the fact that unbound screenings represent a cost that could be minimized.
5. The introduction of the screening based in fetal DNA in maternal blood within the prenatal diagnosis will be translated into an increase of the prenatal screening sensitivity in cases of intermediate screening risk (risk between 1: 251 and 1: 1100). Despite the additional economic cost this will be mean an improvement in public health.
6. In order to be able to fully evaluate the effectiveness of the prenatal screening program for aneuploidies, it is necessary to establish a periodic system for the closure of all cases with completed risk calculations and also those that could not be performed risk calculation for various reasons.

## 6. BIBLIOGRAFIA

Alcaine, M.J., Aulesa, C., Barrenechea, E.M., Casals, E., González, C., Martín, I., Martínez, M. C., Martínez, P., Méndez, H., Prieto, M.B., Suárez, J., Tejedor, E. (2015). Estado actual del cribado prenatal de cromosomopatías en España: Resultados encuesta SEQC 2013. *Revista del Laboratorio Clínico*, 8 (3), 138-148. doi: [10.1016/j.labcli.2015.07.002](https://doi.org/10.1016/j.labcli.2015.07.002)

Analizadores Elecsys y cobas e (2011). *PAPP-A: Proteína plasmática A asociada al embarazo*, 3, 1-4.

Analizadores Elecsys y cobas e (2012). *free  $\beta$ hCG: subunidad  $\beta$  libre de la gonadotropina coriónica humana*, 6, 1-4.

Bailón, E. (2004). Situación actual del diagnóstico prenatal. *Atención primaria*, 34 (9), 454-456. Recuperat de <http://www.elsevier.es/es-revista-atencion-primaria-27-articulo-situacion-actual-del-diagnostico-prenatal-13069030#elsevierItemBibliografias>

Centre Anàlisis Biològiques. Test de cribado prenatal no invasivo en sangre materna. Recuperat 9 de maig de 2018 des de: <http://www.centre-analisis.com/Portals/0/NSGCribadoPrenatal.pdf>

Comas, C., Echevarria, M., Rodriguez, M.A., Rodriguez, I., Sabrià, J. (2012) Control de calidad en el cribado prenatal de aneuploidías. *Diagnóstico Prenatal*; 23(1), 15-24.

Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial (2008) *Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos* (59ª Asamblea General). Seul, Corea.

Departament de Salut. Protocol de diagnòstic prenatal d'anomalies congènites. Generalitat de Catalunya 2017.

Gardner, R.J., Sutherland, G.R. (2004). *Chromosomes abnormalities and genetic counseling: Oxford Monographs on Medical Genetics*. (3a ed.). Oxford: Oxford University Press.

Green, E.D (1989). *National Human Genome Research Institute* (NHGRI). Recuperat de: <https://www.genome.gov/11508982/chromosome-abnormalities-fact-sheet/>

International Standard Organization. (2015). *Quality management systems. Requeriments. ISO 9001:2015*. Genève: ISO.

Loane, M., Morris, J. K., Addor, M.-C., Arriola, L., Budd, J., Doray, B., Garne, E., Gatt, M., Haeusler, M., Khoshnood, B., Melve, K., Latos-Bielenska, A., McDonnell, B., Mullaney, C., O'Mahony, M., Queiber-Wahrendorf, A., Rankin, J., Rissmann, A., Rounding, C., Salvador, J., Tucker, D., Wellesley, D., Yevtushok, L i Dolk, H. (2013). Twenty-year trends in the prevalence of Down syndrome and other trisomies in Europe: impact of

maternal age and prenatal screening. *European Journal of Human Genetics*, 21(1), 27–33. <http://doi.org/10.1038/ejhg.2012.94>

Martin, I., Lopez, H. (2007). Cribado prenatal de anomalías congénitas: marcadores y estrategias: Sociedad Española de Química Clínica (SEQC). *Educación Continuada en el Laboratorio Clínico*, 11, 9 - 18.

Molina F.S. (2011) Métodos de cribado de aneuploidías en diagnóstico prenatal. *Diagnóstico prenatal*, 22 (3): 92-96. doi: 10.1016/j.diapre.2010.01.004

Moreno, M., Fernández, F.J., Barreiro, E. (2004). Repercusión clínica de las anomalías cromosómicas. *Anales de Pediatría*, 61 (3): 236-241. doi: 10.1016/S1695-4033(04)78803-7

Naveiro, M., Manzanares, S. (2011). Screening de aneuploidías. Servicio de Obstetricia y Ginecología del Hospital Universitario Virgen de las Nieves (Granada).

OMEGA 3000 (2007). Programa de análisis clínicos. Barcelona: Roche Diagnostics SL.

Organización Mundial de la Salud (OMS) (2010). 63ª Asamblea Mundial de la Salud. *Defectos congénitos*. Ginebra: OMS.

Palomaki, G.E., Haddow, J.E. (1987). Maternal serum alpha-fetoprotein, age, and Down syndrome risk. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*, 156 (2), 460-463. doi: [10.1016/0002-9378\(87\)90309-7](http://doi.org/10.1016/0002-9378(87)90309-7)

Prieto, B., Fernández, A. (2010). ADN fetal en sangre materna: Utilidad y aplicaciones clínicas en desarrollo. Sociedad Española de Química Clínica (SEQC). *Educación Continuada en el Laboratorio Clínico*, 13, 94-103.

Sabrià, J., Borrell, A., Florensa, A., Vila, E., Cabrero, D., Bach, C. (2004). Cribado prenatal de aneuploidías: Metodología y recomendaciones para la aplicación de las distintas estrategias. *Progresos en Diagnóstico y Tratamiento Prenatal*, 16(2): 83-96.

Sabrià, J., Sabrià, E., Bach, C., Sabrià, J. (2010). *Detección prenatal de las aneuploidías*. Barcelona: Roche Diagnostics SL.

Servei Català de la Salut. Instrucció 07/2008. Programa de diagnòstic prenatal d'anomalies congènites a Catalunya.